

Rec'd PCT/PTO 15 APR 2003 1,658

10/531658

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
6. Februar 2003 (06.02.2003)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 03/010323 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: C12P 7/20, 7/64,
7/62, C12M 1/00, 1/33, C11C 1/04, 3/00, 3/10

(74) Anwälte: LIPPERT, Hans usw.; HOLTZ MARTIN LIP-
PERT, Emil-Claar-Strasse 20, 60322 Frankfurt (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/EP02/06077

(22) Internationales Anmeldedatum:

4. Juni 2002 (04.06.2002)

(25) Einreichungssprache:

Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache:

Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:

01115081.0 21. Juni 2001 (21.06.2001) EP
101 56 584.4 20. November 2001 (20.11.2001) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): DR. FRISCHE GMBH [DE/DE]; Industriestrasse
13, 63755 Alzenau (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BRUNNER, Karlheinz
[DE/DE]; Gutenbergallee 19, 63538 Grosskrotzenburg
(DE). FRISCHE, Rainer [DE/DE]; Schüttenhelmweg
60, 60529 Frankfurt (DE). RICKER, Rainer [DE/DE];
Gotenweg 8, 63128 Dietzenbach (DE). KASKE, Corinna
[DE/DE]; Am Friedrichsberg 29a, 63639 Flörsbachtal
(DE). KILIAN, Dirk [DE/DE]; Vogelwaidstrasse 5,
63477 Maintal (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG,
SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ,
TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK,
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR),
OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Erklärungen gemäß Regel 4.17:

— hinsichtlich der Berechtigung des Anmelders, ein Patent zu
beantragen und zu erhalten (Regel 4.17 Ziffer ii) für die
folgenden Bestimmungsstaaten AE, AG, AL, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,
CZ, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ,
NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW,

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD AND DEVICE FOR OBTAINING FATTY ACID ESTERS FROM NATIVE OILS AND FATS BY MEANS
OF THE ENZYMATIC SEPARATION THEREOF

(54) Bezeichnung: VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR GEWINNUNG VON FETTSÄUREESTERN AUS NATIVEN
ÖLEN UND FETTEN DURCH DEREN ENZYMATISCHE SPALTUNG

(57) Abstract: The invention relates to a method and a device for obtaining fatty acids or fatty acid esters from native oils and fats.
According to the invention, lipases act on a mixture of an oil or a fat, water and optionally an oil-soluble or fat-soluble alcohol, said
lipases acting as biocatalysts for separating the oil or fat and optionally for forming an ester. The reaction mixture thus formed is
then placed in a self-emptying centrifuge in order to be separated into an aqueous, glycerine-containing phase and an organic phase.
The centrifuge is adjusted in such a way that an intermediate layer enriched with lipase which forms between the flow of the aqueous
phase and the flow of the organic phase is concentrated in the centrifuge which is emptied at pre-determined intervals. The content
emptied out of the drum of the centrifuge is then reintroduced into the combined separation process or the combined separation/ester
formation process.

(57) Zusammenfassung: Verfahren und Vorrichtung zur Gewinnung von Fettsäuren oder Fettsäureestern aus nativen Ölen und
Fetten, in welchen man auf ein Gemisch aus einem Öl bzw. Fett, Wasser und wahlweise einem öl- bzw. fettlöslichen Alkohol als
Biokatalysatoren für eine Spaltung des Öls bzw. Fetts und gegebenenfalls eine Esterbildung Lipasen einwirken lässt, das hierbei
gebildete Reaktionsgemisch zur Trennung in eine wässrige, glycerinhaltige Phase und eine organische Phase, in eine selbstaustra-
gende Zentrifuge gibt, die Zentrifuge so eingestellt, dass eine zwischen der ablaufenden wässrigen und ablaufenden organischen
Phase auftretende, mit Lipase angereicherte Zwischenschicht sich in der Zentrifuge ansammelt, und die Zentrifuge zu vorgegebenen
Zeitpunkten entleert und den dabei ausgetragenen Trommelinhalt der Zentrifuge in den kombinierten Spalt- bzw. wahlweise kom-
binierten Spalt/Esterbildungsprozess zurückführt.

WO 03/010323 A1



ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)

— Erfindererklärung (Regel 4.17 Ziffer iv) nur für US

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

**VERFAHREN UND VORRICHTUNG ZUR GEWINNUNG
VON FETTSÄUREESTERN AUS NATIVEN ÖLEN UND
FETTEN DURCH DEREN ENZYMATISCHE SPALTUNG.**

Verfahren und Vorrichtung zur Gewinnung von Fettsäuren oder Fettsäureestern aus nativen Ölen und Fetten durch deren enzymatische Spaltung und wahlweise gleichzeitige enzymatische Esterbildung mit Alkoholen, insbesondere n- und Iso-Alkoholen

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Gewinnung von Fettsäuren oder Fettsäureestern aus nativen Ölen und Fetten durch deren enzymatische Spaltung und wahlweise gleichzeitig stattfindende enzymatische Esterbildung unter Einsatz von Alkoholen, insbesondere n- und Iso-Alkoholen.

Die enzymatische Spaltung von Ölen und Fetten ist zwar seit langem bekannt, hat sich jedoch wegen des hohen Enzymverbrauchs bisher gegenüber der Druckspaltung nicht durchgesetzt.

Die Fettsäureester aus nativen, in Ölen und Fetten enthaltenen Fettsäuren und mittelkettigen (ab einer Kettenlänge C6) bis langkettigen (im allgemeinen bis zu einer Kettenlänge C-24) n- und Iso-Alkoholen haben für zahlreiche Anwendungen speziell auf dem Schmierstoffsektor eine hohe wirtschaftliche Bedeutung.

Ester dieser Alkohole mit ungesättigten Fettsäuren, insbesondere die Ölsäureester, lassen sich auf klassisch chemischem Weg z.B. über saure Veresterung nur schwer herstellen. Eine enzymatische Herstellung dieser Ester aus Fettsäuren und Alkohol wird bisher aufgrund des hohen Enzymbedarfs nicht durchgeführt.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein wirtschaftlich rentables enzymatisches Verfahren zur Herstellung von Fettsäuren sowie auch Fettsäureestern aus nativen Ölen und Fetten und eine entsprechende Vorrichtung anzugeben.

Diese Aufgabe wird durch den Gegenstand der unabhängigen Ansprüche gelöst. Bevorzugte Weiterbildungen sind in den Unteransprüchen definiert.

Die Erfinder haben ein wirtschaftlich effizientes enzymatisches Fett- bzw. Ölsplattungsverfahren und eine entsprechende Vorrichtung hierzu entwickelt und darüber hinaus festgestellt, daß sich beides in hervorragender Weise dazu verwenden läßt, die bisherigen Probleme bei der enzymatischen Spaltung und der enzymatischen Herstellung der in Frage stehenden Ester "auf einen Schlag" zu lösen.

Das erfindungsgemäße Verfahren zur enzymatischen Herstellung von Fettsäureestern zeichnet sich dadurch aus, daß man auf ein Gemisch aus einem Öl bzw. Fett, Wasser und einem fett- bzw. öllöslichen Alkohol, insbesondere n- und/oder Iso-Alkoholen, als Biokatalysatoren für die Spaltung des Öls bzw. Fetts und die Esterbildung Lipasen einwirken läßt. Das hierbei gebildete Reaktionsgemisch wird zur Trennung der sich beim kombinierten Spalt- und Esterbildungsprozeß bildenden wässrigen, glycerinhaltigen Phase von der organischen Phase, die die Fettsäureester enthält, in eine selbstaustragende Zentrifuge gegeben. Diese wird so eingestellt, daß eine zwischen der wässrigen und organischen Phase gebildete, mit Lipase (Enzym) angereicherte Zwischenschicht sich in der Zentrifugentrommel ansammelt. Die Zentrifugentrommel wird zu vorgegebenen Zeitpunkten entleert und der dabei ausgetragene Zentrifugentrommelinhalt wird in den kombinierten Spalt- und Esterbildungsprozeß zurückgeführt. Der Trommelinhalt kann auch für einen weiteren, anderen Spalt- und Esterbildungsprozeß ausgenutzt werden, indem er in diesen Prozeß eingetragen wird oder für einen späteren Prozeß lediglich bereitgestellt wird.

Ohne den Alkoholzusatz findet eine enzymatische Spaltung ohne gleichzeitige Esterbildung statt, wobei die Spaltung die äußerst wirtschaftliche Gewinnung von freien Fettsäuren und Glycerin ermöglicht. Ansonsten ist die grundsätzliche Verfahrensdurchführung identisch.

Als selbstaustragende Zentrifuge eignen sich die sogenannten selbstentschlammenden Separatoren, in deren Tellerpaket sich die besagte Zwischenschicht anreichern kann. Prinzipiell kann man jedoch auch in äquivalenter Weise anstelle des Tellerpaketes z.B. einen Rippeneinsatz oder andere interne Strukturen wie Flügel und dergleichen nutzen. Wichtig ist, daß die Zentrifuge selbstaustragend

ist, so daß es von Zeit zu Zeit möglich ist, die in der Zentrifuge angesammelte Zwischenschicht durch eine Entleerung der Zentrifugentrommel auszutragen.

Die genannte Zwischenschicht bildet sich auch ohne den Alkoholzusatz bei der enzymatischen Fettspaltung, und zwar bei der Trennung der sich bildenden glycerinhaltigen wässrigen Phase und der die abgespaltenen freien Fettsäuren enthaltenden organischen Phase. Die Problematik dieser emulsionsartigen Zwischenschicht ist bekannt aus: "Continuous Use of Lipases in Fat Hydrolysis", M. Bühler and Chr. Wandrey, Fat Science Technology 89/ Dez. 87, Seiten 598 bis 605; "Enzymatische Fettspaltung", M. Bühler and Chr. Wandrey, Fett Wissenschaft Technologie 89 / Nr.4 / 1987, Seiten 156 bis 164; und "Oleochemicals by Biochemical Reactions ?", M. Bühler and Chr. Wandrey, Fat Science Technology 94 / Nr. 3 / 1992, Seiten 82 bis 94.

In "Continuous Use of Lipases in Fat Hydrolysis" wird Öl in einem ersten Rühr-Reaktor kontinuierlich gespalten. Das Reaktionsprodukt, das neben freien Fettsäuren Wasser, Glycerin und Mono- und Diglyceride, ungespaltenes Öl sowie Enzym enthält, wird in eine Vollmantel-Tellerzentrifuge gegeben. Diese wird so eingestellt, daß die Zwischenschicht zwischen wässriger Glycerinphase und organischer Phase mit der organischen Phase ausgetragen wird. Die die Zwischenschicht enthaltende organische Phase wird einem zweiten Rühr-Reaktor zugeführt, dem ferner eine frische Wasser/Enzymmischung zugeführt wird. Das Reaktionsprodukt des zweiten Reaktors wird wiederum einer Vollmantel-Tellerzentrifuge zugeführt, die allerdings nun so eingestellt wird, daß die Zwischenschicht mit der glycerinhaltigen wässrigen Phase und die entstehenden freien Fettsäuren ohne Emulsions-Zwischenschicht ausgeschleust werden. Die wässrige Phase wird in den ersten Reaktor zurückgeleitet, so daß dort die in der Emulsions-Zwischenschicht enthaltenen Enzymmengen dem Prozeß erneut zugeführt werden. Ohne- hin werden darüber hinaus in der Regel bei selbstaustragenden Zentrifugen lediglich an der Trommelwand abgeschiedene Feststoffe diskontinuierlich mit den Trommelentleerungen ausgetragen

Auch bei der erfindungsgemäß durchgeführten Spaltung mit oder ohne gleichzeitiger Esterbildung tritt bei der Phasentrennung eine emulsionsartige Zwischenschicht auf, die neben der organischen Phase mit den gebildeten freien Fettsäuren bzw. deren Estern und der wässrigen glycerinhaltigen Phase beträchtliche Enzymmengen enthält. Durch eine außergewöhnlich betriebene Zentrifuge wird jedoch die Problematik erfolgreich gelöst und eine effiziente und nahezu verlustfreie Kreislaufführung vom Enzym bewerkstelligt. Hierdurch wird es möglich, bei hoher Enzymkonzentration und damit in kurzer Reaktionszeit ohne nennenswerte Enzymverluste die Fettspaltung mit hohem Spaltgrad und die Esterbildung mit hoher Ausbeute zu betreiben.

Es wird eine selbstaustragende Zentrifuge, bevorzugt ein sogenannter selbstaustragender Separator mit Tellerpaket, eingesetzt. Die Zentrifuge wird so eingestellt, daß weder die organische esterhaltige Phase noch die wässrige Phase nennenswerte Mengen enzymhaltiger Phasengrenzemulsion enthalten, sondern sich diese in der Zentrifuge, bevorzugt im Bereich der im Tellerpaket liegenden Trennzone eines Separators, anreichern. Dies stellt eine insofern ungewöhnliche Einstellung dar, als daß man auch bei den bekannten selbstaustragenden Separatoren, den sogenannten selbst entschlammenden Separatoren, üblicherweise gerade vermeidet, daß sich bei einer Flüssig/Flüssigphasentrennung größere Mengen einer sich bildenden Zwischenschicht im Tellerpaket ansammeln. Stattdessen sorgt man im allgemeinen dafür, daß diese Zwischenschicht möglichst gering ausfällt und in der nicht primär zu gewinnenden Phase mit ausgeschleust wird. So wurde im übrigen prinzipiell auch in der obigen Veröffentlichung vorgegangen, in der die Zwischenschicht hinter der zweiten kontinuierlich arbeitenden Mantelzentrifuge mit der wässrigen Phase ausgeschleust wurde und zum ersten Reaktor zurückgeleitet wurde. Darüber hinaus werden in der Regel bei selbstaustragenden Zentrifugen lediglich an der Trommelwand abgeschiedene Feststoffe diskontinuierlich mit den Trommelentleerungen ausgetragen.

Für den Fachmann bedeutet die erfindungsgemäße Einstellung der Zentrifuge, daß er durch die ihm geläufigen Maßnahmen der Einstellung der Wehre und/oder Einstellung des Gegendrucks im Ablauf der beiden zu trennenden flüssigen Pha-

sen dafür sorgt, daß sowohl die organische Phase als auch die wässrige glycerin-haltige Phase möglichst klar und emulsionsfrei ablaufen.

Durch die Anwesenheit der Alkohole treten beim erfindungsgemäßen Verfahren gegenüber der reinen Spaltung weder ein nennenswert erhöhter Enzymbedarf noch eine erheblich verlängerte Reaktionszeit auf. Auch lassen sich die Ester auf einfache Weise aus dem Reaktionsgemisch gewinnen.

Die Alkohole werden in stöchiometrisch erforderlicher Menge für die Esterbildung, mit Vorteil jedoch in einem Überschuß von 2 bis 100 %, bevorzugt 5 % bis 20 %, gegenüber dem stöchiometrischen Bedarf den entsprechenden Ölen bzw. Fetten zugesetzt. Ein Überschuß an Alkohol beschleunigt dabei die Fettspaltung und bewirkt unerwarteter Weise in kurzer Zeit eine vollständige Spaltung aller Glyceride.

Das bei der Reaktion entstehende Glycerin geht aufgrund der äußerst guten Löslichkeit in Wasser und der sehr schlechten Löslichkeit in der hydrophoben organischen Phase in die Wasserphase über. Da die mittel- bis langkettigen Alkohole sehr schlecht wasserlöslich, jedoch sehr gut löslich in der organischen Phase sind, Wasser dagegen in der organischen Phase sehr schlecht löslich ist, werden sie entsprechend dem chemischen Gleichgewicht enzymatisch zu Fettsäureestern umgesetzt. Dies geschieht entweder durch Veresterung der aus der Fettspaltung stammenden Fettsäuren unter Abspaltung von Wasser, das in die wässrige Phase wandert, oder durch direkte Umesterung der Öle bzw. Fette unter Abspaltung von Glycerin, das ebenfalls in die wässrige Phase übergeht. Das chemische Gleichgewicht in der organischen Phase liegt somit ganz auf der Seite des Esters.

Durch einen überstöchiometrischen Zusatz von Alkohol kann das Gleichgewicht weiter auf die Seite des Esters verschoben und die Reaktionsgeschwindigkeit wesentlich erhöht werden. Schon bei einem geringfügig überstöchiometrischen Zusatz von Alkohol von etwa 5% ist die erfindungsgemäß durchgeführte enzymatische Fettspaltung in vielen Fällen nahezu vollständig. Dies wurde für eine Reihe

von n- und Iso-Alkoholen von C8 bis C24 nachgewiesen. Die organische hydrophobe Phase enthält keine Mono-, Di- oder Triglyceride. Sie besteht lediglich aus Fettsäureestern des zugesetzten Alkohols, wenig freien Fettsäuren, der für deren Umsetzung erforderlichen Alkoholmenge und dem Alkoholüberschuß. Der Alkoholüberschuß einschließlich dieser noch nicht umgesetzten Alkoholmenge und die freien Fettsäuren lassen sich auf einfache Weise aus der organischen Phase entfernen und so die reinen Ester gewinnen.

Die Art der Maßnahmen zur Gewinnung der reinen Ester hängt von der Art der Fettsäuren und der Alkohole ab. Werden z.B. Ester von C18-Fettsäuren und C18-Alkoholen aus entsprechenden Ölen bzw. Fetten und Alkoholen erzeugt, lassen sich die freien C18-Fettsäuren zusammen mit dem C18-Alkoholüberschuß mittels Destillation aus dem Reaktionsendprodukt der Spaltung/Esterbildung entfernen, da die erzeugten Fettsäureester einen wesentlich niedrigeren Dampfdruck als die freien Fettsäuren und Alkohole haben.

Die destillativ abgetrennten Fettsäuren und nicht umgesetzter Alkohol können zur kombinierten Spalt/Esterbildungsreaktion zurückgeführt werden und so ebenfalls verlustfrei zu Estern umgesetzt werden. Bei kontinuierlicher Betriebsweise wird daher dem Ausgangsöl nur die stöchiometrische Menge zugesetzt, die Restmenge an Alkohol und die freien Fettsäuren werden kreislaufgeführt.

In einigen Fällen kann es vorkommen, daß die freien Fettsäuren und die entstehenden Ester etwa gleichen Dampfdruck aufweisen. Dies trifft z.B. bei Estern aus C18-Fettsäuren mit Iso-C13-Alkoholen zu. In diesen Fällen lassen sich die Überschußalkoholmengen des Iso-C13-Alkohols destillativ und die freien C18-Fettsäuren durch chemische Entsäuerung des als Sumpf bei der Destillation anfallenden Ester /Fettsäuregemisches abtrennen, freisetzen und rückführen.

Eine interessante Variante der Fettspaltung mit integrierter Ver- bzw. Umesterung ergibt sich bei Verwendung von Ölen, in denen die Fettsäuren nicht statistisch, sondern systematisch verteilt an den Alkoholgruppen des Glycerins gebunden sind wie z.B. die Erucasäure beim Crambeöl. Hier lassen sich bei geeigneter Wahl

des spaltenden Enzyms gezielt nur Erucasäureester der zugesetzten Alkohole und Monoglyceride der anderen Fettsäuren des Crambeöls oder Erucasäurediglyceride und Fettsäureester der Nicht-Erucasäuren herstellen. Die Auftrennung der entstehenden Gemische kann dann in bekannter Weise vorzugsweise destillativ erfolgen. So läßt sich z.B. das bei kettenlängenspezifisch spaltenden Enzymen und Iso-C13-Alkohol als Alkoholkomponente entstehende Gemisch aus Diglycerid der Erucasäure, Iso-C13-Überschußalkohol und C18-Fettsäure-Iso-C13-Alkoholester auf einfache Weise destillativ trennen.

Von Vorteil kann es sein, das bei der enzymatischen Spaltung/Esterbildung entstehende Stoffgemisch, insbesondere nach Abtrennung einer selektiv durch ein spezifisches Enzym gebildeten Komponente (z.B. der C18-Fettsäure-Iso-C13-Alkoholester), in einem nachgeschalteten, zweiten enzymatischen Spaltprozess mit einem anderen Enzym umzusetzen und so die Fettsäuren bzw. Fettsäureester zu erhalten, für die dieses Enzym seine selektive katalytische Wirkung für den Spalt- und Esterbildungsprozeß entfaltet. So läßt sich ein weiter unten erläutertes von C18-Fettsäuren befreites Erucasäurediglycerid in einem zweiten enzymatischen Spaltprozess mit einem kettenlängen-unspezifischen Enzym zu Glycerin und Erucasäure bzw. in Anwesenheit von Alkohol zu Erucasäureester umsetzen.

Die erfindungsgemäße Durchführung der enzymatischen Fettspaltung gestattet somit, von Ölen und Fetten ausgehend, gezielt Fettsäuren und Fettsäureester herzustellen, die bisher nur wesentlich aufwendiger erzeugt werden konnten. Ausgenutzt werden hierbei die bekannten Wirkungen von Lipasen als Biokatalysatoren, die das chemische Gleichgewicht zwischen Estern, Alkoholen, Wasser und Säuren einstellen. Sie wirken insbesondere auf Fette und Öle. Letztere sind Glycerinfettsäureester, vor allem Triglyceride, mittel- bis langkettiger, in der Regel unverzweigter Fettsäuren. Lipasen arbeiten im Zweiphasensystem Öl bzw. Fettsäuren als hydrophobe Phase und Wasser als hydrophile Phase an der Phasengrenzschicht und stellen das chemische Gleichgewicht in den beiden Phasen ein. Die Lage des chemischen Gleichgewichts wird dabei von der Konzentration der jeweiligen Stoffe in den jeweiligen Phasen bestimmt.

Im Phasensystem Wasser/Öl bzw. native Fettsäure ist die Konzentration von Wasser in der Wasserphase dominierend, in der Ölphase dagegen sehr gering. Da Glycerin sehr gut in Wasser, kaum jedoch in der hydrophoben Phase aus Öl bzw. hydrophoben Fettsäuren löslich ist, muß im Gleichgewicht die Glycerinkonzentration in der Wasserphase wesentlich höher als in der Ölphase sein. In der Ölphase vorhandenes bzw. gebildetes Glycerin geht daher nahezu vollständig in die Wasserphase über. Native Fettsäuren mittlerer bis langer Fettsäureketten sind hydrophob und in Wasser nahezu unlöslich. Ihre Konzentration ist daher in der Wasserphase sehr niedrig. In der hydrophoben Phase sind sie dagegen sehr gut löslich, sie können sogar selbst die hydrophobe Phase darstellen. Wirken Lipasen an der Grenzschicht Wasser/ Öl auf das Öl, so wird dieses unter Verbrauch von Wasser über Diglyceride und Monoglyceride letztlich zu Fettsäuren und Glycerin gespalten. Im Gleichgewichtszustand gilt dabei nach dem Massenwirkungsgesetz für die beiden Phasen:

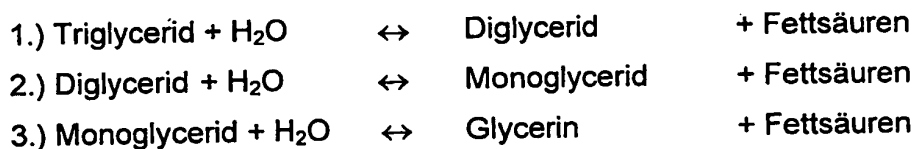
Wasserphase

$$\{[\text{Fettsäuren}]^3 \times [\text{Glycerin}]\} / \{[\text{Triglycerid}] \times [\text{Wasser}]^3\} = K$$

Öl-/Fettsäurephase

$$\{[\text{Fettsäuren}]^3 \times [\text{Glycerin}]\} / \{[\text{Triglycerid}] \times [\text{Wasser}]^3\} = K$$

Für das Reaktionsgleichungssystem der Triglyceridspaltung zu Fettsäuren gilt:



Daraus resultiert nach dem Massenwirkungsgesetz:

$$k_1 = \{[\text{Triglycerid}] \times [\text{H}_2\text{O}]\} / \{[\text{Diglycerid}] \times [\text{Fettsäuren}]\}$$

$$k_2 = \{[\text{Diglycerid}] \times [\text{H}_2\text{O}]\} / \{[\text{Monoglycerid}] \times [\text{Fettsäuren}]\}$$

$$k_3 = \{[\text{Monoglycerid}] \times [\text{H}_2\text{O}]\} / \{[\text{Glycerin}] \times [\text{Fettsäuren}]\}$$

$$K = k_1 \times k_2 \times k_3 = \{[\text{Triglycerid}] \times [\text{H}_2\text{O}]^3\} / \{[\text{Glycerin}] \times [\text{Fettsäuren}]^3\}$$

In der organischen Phase ist die Wasserkonzentration $[H_2O]$ niedrig und konstant. Da Glycerin vorwiegend in der Wasserphase in Lösung geht, wird ebenfalls die Glycerinkonzentration $[Glycerin]$ in der organischen Phase niedrig und damit quasi konstant. Damit ergibt sich:

$$K \times [Glycerin] / [H_2O]^3 = K' = [Triglycerid] / [Fettsäuren]^3.$$

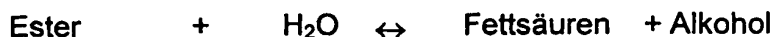
Aufgrund der Unterschiede in der Löslichkeit der jeweiligen Komponenten in der hydrophilen und hydrophoben Phase spalten Lipasen bei hoher Konzentration von Wasser in der hydrophilen Phase Fette und Öle nahezu vollständig in Glycerin und Fettsäuren. Das gebildete Glycerin löst sich dabei im Wasser, die Fettsäuren zunächst im Öl, bis sie zuletzt eine eigene, hydrophobe Fettsäurephase bilden.

Wird die enzymatische Fettspaltung erfindungsgemäß in Anwesenheit zusätzlicher, anderer Alkohole als dem in Fetten und Ölen enthaltenen Alkohol Glycerin durchgeführt, so stellen auch hier die Lipasen das chemische Gleichgewicht in der hydrophilen und hydrophoben Phase ein. (Ausgenommen hiervon sind Alkohole und Alkoholkonzentrationen, die die Wirksamkeit des Enzyms beeinträchtigen bzw. mit dem Enzym unverträglich sind und es deaktivieren.) Auch in diesem Fall wird die Lage des chemischen Gleichgewichts vom Verteilungskoeffizienten der jeweiligen Komponenten zwischen der hydrophilen und hydrophoben Phase bestimmt. Die Berechnung bzw. die Abschätzung der chemischen Gleichgewichtsverteilung in den beiden Phasen ist naturgemäß komplizierter als bei der einfachen Fett- bzw. Ölsplaltung. Dies gilt insbesondere für mehrwertige Alkohole, die wasserlöslich sind wie z.B. Trismethylpropan und Pentaerythrit.

Wesentlich einfacher zu kalkulieren ist das Verhalten von hydrophoben in Wasser praktisch unlöslichen Alkoholen (Mono- wie auch Polyole). Zu derartigen Alkoholen zählen die erfindungsgemäß eingesetzten mittel- (ab C6-Kettenlänge) bis langkettigen, n- und Iso-Alkohole. Diese Alkohole sind dem Zweiphasensystem zugesetzt praktisch nur in der organischen Phase löslich. Die wässrige glycerin-haltige Phase enthält entsprechend der geringen Sättigungskonzentration nur sehr wenig Alkohol. Ein Zusatz von solchen Alkoholen verschiebt das Spaltgleich-

gewicht durch Esterbildung und Verbrauch an freien Fettsäuren in Richtung Spaltung. Dies wird verstärkt durch Zugabe eines Alkoholüberschusses, so daß im Gleichgewicht in der organischen Phase keine Tri-, Di- und Monoglyceride mehr sein können. Für derartige gut in der organischen Phase lösliche Alkohole kann man die obige Reaktion in Anwesenheit von Alkohol wie folgt beschreiben:

Grundsätzlich gilt unabhängig von der Art des Alkohols:



$$K_{\text{Ester}} = \frac{[\text{Ester}] \times [\text{H}_2\text{O}]}{[\text{Fettsäuren}] \times [\text{Alkohol}]}$$

Anders als bei wasserlöslichen Alkoholen gilt für gut in der organischen Phase lösliche Alkohole: [Alkohol] ist in H₂O gesättigt und damit konstant. Damit gilt:

$$K' \times K_{\text{Ester}} / [\text{H}_2\text{O}] = K'' = \{ [\text{Triglycerid}] \times [\text{Ester}] / [\text{Fettsäuren}]^4 \times [\text{Alkohol}] \}$$

Das erfindungsgemäße Verfahren läßt sich mit gutem Erfolg mit Alkoholen durchführen, deren Löslichkeit in Wasser kleiner 5 Gew.% bezogen auf die wässrige Phase ist. Die Ausbeute und Umsetzungsrate nehmen bei steigender Wasserlöslichkeit des Alkohols ab. So wurde z.B. TMP als Alkohol im erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzt, woraufhin die Umsetzungsrate um etwa 50% sank.

Einige Lipasen, sogenannte spezifische Lipasen, sind nicht fähig, sämtliche glyceridische Fettsäureesterbindungen zu spalten. Insbesondere die mittlere, am C2 des Glycerins gebundene Fettsäure kann von bestimmten Lipasen nicht abgespalten werden. Durch Verwendung derartiger Lipasen können daher gezielt z.B. Monoglyceride und Fettsäuren erzeugt werden. Enthalten die Ausgangsöle bestimmte Fettsäuren nicht statistisch, sondern systematisch verteilt im Öl oder Fett glyceridisch gebunden, so können mit spezifisch wirkenden Lipasen Fettsäuren bzw. deren Ester gewonnen werden, die nicht dem im Triglycerid vorhandenen Fettsäuremuster entsprechen.

So ist bekannt, daß langkettige Fettsäuren mit Kettenlängen > 20 wie Erucasäure in nativen Ölen und Fetten stets an den äußeren Hydroxygruppen des Glycerins,

nicht jedoch an der mittleren Hydroxygruppe gebunden vorliegen. Bei Ölen wie z.B. erucasäurereichem Crambeöl mit über 60 Gew.% Erucasäure (und ca. 6 Gew.% Fettsäuren > C22) sind praktisch alle Fettsäuren mit Kettenlängen > C20 am C1 und C3 des Glycerins gebunden, die restlichen ca. 33,33 Mol. % C18-Fettsäuren sind am C2 des Glycerins gebunden. Mit einer spezifischen Lipase kann man nun gezielt nur die endständigen Säuren abspalten und deren Ester erzeugen. Die Erucasäureester können dann z.B. über fraktionierte Kristallisation isoliert werden. Auch in diesem Fall wirkt das Enzym an der Phasengrenzschicht. Es kann daher erfindungsgemäß effizient kreislaufgeführt werden.

Weiterhin ist bekannt, das die Wirksamkeit von Lipasen oftmals, je nach Typ der Lipase, abhängig von der Kettenlänge der jeweiligen Fettsäuren oder vom Sättigungsgrad und von der Konformation (Cis, Trans, konjugiert oder nicht konjugiert usw.) der Fettsäuren ist. Das erfindungsgemäße Verfahren kann auch diese Effekte zur gezielten Erzeugung von Fettsäuren bzw. deren Estern nutzen.

Auch in diesem Fall findet die Enzymkatalyse in der Grenzschicht der hydrophilen und der hydrophoben Phase statt. Die Kreislaufführung des Enzyms und Ausschleusung von Komponenten ermöglichen dabei die gezielte Erzeugung gewünschter Produkte. Dies kann beispielhaft wiederum am oben erwähnten Crambeöl erklärt werden.

Die unspezifische Lipase aus *Candida Rugosa* spaltet langkettige Fettsäuren wie Erucasäure wesentlich langsamer als C16 und C18 Fettsäuren. Erfindungsgemäß durchgeführt, führt die enzymatische Fettspaltung mit Lipase aus *Candida Rugosa* zu Erucasäure-1,3-Diglycerid und den am C2 des Glycerins abgespaltenen Fettsäuren. Letzteres sind C18-Fettsäuren. Mittels einer Kurzwegdestille lassen sich diese Fettsäuren und auch deren Ester aus dem Diglycerid in vorteilhafter Weise als Destillat abtrennen. Analoge Fälle lassen sich für eine Vielzahl anderer Fettsäuren wie z.B. Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren bei Verwendung geeigneter Enzyme realisieren.

Wie bereits oben erwähnt, wird zur Abtrennung der Fettsäuren aus dem Reaktionsprodukt der Spaltreaktion oder alternativ der Fettsäureester aus dem Reaktionsprodukt der Spalt/Esterbildungsreaktion vorzugsweise die Vakuumdestillation angewandt, und zwar bevorzugt eine schonende Kurzwegdestillation. Bei erzeugten Fettsäureestern mit niedrigerem Dampfdruck als dem der freien Fettsäuren und Alkohole enthält das Destillat die Überschussmenge an n- oder Iso-Alkohol, nicht umgesetzte Alkoholmengen und freie Fettsäuren. Das Destillat wird bevorzugt in den Spalt/Esterbildungsprozeß zurückgeführt.

Alternativ zur destillativen Abtrennung der Fettsäureester bzw. Fettsäuren kann eine adsorptive Trennung (z.B. Säulenchromatographie) eingesetzt werden.

Vakuum-Dünnschicht-Verdampfer wie Fallfilmverdampfer oder Kurzwegdestillen sind im Vergleich zur Blasendestillationstechnik schonender und vor allem kontinuierlich betreibbar, weshalb sie bevorzugt eingesetzt werden. Zudem verlangen diese Destillationstechniken ohnehin einen flüssigen Restrückstand von mindestens ca. 5% bis 10%, da andernfalls der Destillationsfilm reißt. Diese Bedingung wird erfindungsgemäß sowohl bei der Spaltung als auch beim kombinierten Spalt/Esterbildungsprozeß eingehalten.

Der aus der Destille ablaufende Sumpf enthält, beim kombinierten Spalt/Esterbildungsprozeß, wie weiter oben bereits ausgeführt, entweder die gewünschten Ester oder die Ester und noch nicht umgesetzte freie Fettsäuren. Im Falle der reinen Spaltreaktion enthält das Destillat die abgespaltenen Fettsäuren. Der Sumpf bzw. Destillatenrückstand enthält die nicht umgesetzten Triglyceride und wird in den Spaltprozeß zurückgeführt.

Die erfindungsgemäß in der Zentrifuge, nach der bevorzugten Ausführung im Tellerpaket eines Separators, angesammelte emulsionsartige Zwischenschicht wird diskontinuierlich durch periodische Vollerfüllungen der Trommel ausgetragen und die ausgetragene, Enzym enthaltende Zwischenschicht wird wiederverwendet. Dabei ist es zweckmäßig, die Trommelentleerung immer dann vorzunehmen, wenn die ausgeschleuste organische Phase und/oder die wässrige

glycerinhaltige Phase gerade noch nicht beginnen, sich mit ausgeschleuster Zwischenschicht einzutrüben. Häufigere Entleerungen zu vorgegebenen Zeitpunkten sind ebenfalls möglich, werden jedoch nicht bevorzugt. Die Tatsache, daß bei der Vollentleerung auch wässrige Phase und organische Phase mit ausgetragen werden, ist nicht nachteilig, da sämtliche Phasen durch Rückführung in den Reaktor wiederverwendet werden. Statt einer Vollentleerung sind auch Teilentleerungen anwendbar, die allerdings so einzustellen sind, daß die Zwischenschicht möglichst vollständig ausgeschleust wird.

Auf die dargelegte Weise lassen sich die Verluste an mit der wässrigen Phase und organischen Phase ausgetragenen Enzym drastisch senken. Im Vergleich zum zeitabhängigen Enzymverbrauch (Enzymalterung) sind die Ausschleusungsverluste bei dieser erfindungsgemäßen Verfahrensweise sehr gering.

Eine technisch interessante Ergänzung der Erfindung zur weiteren Herabsetzung eines Enzymverlustes in der abgetrennten organischen Phase besteht in der Verwendung eines zusätzlichen selbstaustragenden Polierseparators. Dieser zusätzliche Separator wird unmittelbar hinter dem Separator der einzigen oder letzten Spalt- bzw. Spalt/Esterbildungsstufe vorgesehen und erhält von diesem die ausgeschleuste organische Phase. Es handelt sich bei diesem zusätzlichen Separator vorzugsweise um eine selbstaustragende Zentrifuge mit Tellerpaket, die so eingestellt wird, daß sich die sedimentierenden Feststoffe, d.h. hier die Enzyme, und die noch abschleuderbaren Reste an wässriger Phase an der Trommelwand abscheiden. Die so abgeschleuderten Enzymmengen werden dann wiederum diskontinuierlich ausgetragen und in den Spalt- bzw. Spalt/Esterbildungsprozeß zurückgeführt.

Vorteilhaft läßt sich vor allem bei Verwendung einer selbstaustragenden Zentrifuge zur Abtrennung der fettsäureesterhaltigen organischen Phase die Spaltreaktion in Schlaufenreaktoren diskontinuierlich, oder mit anderen Worten, absatz- oder batchweise durchführen und nicht kontinuierlich und in Durchlaufreaktoren. So wird z.B. ein Reaktor mit Öl befüllt, wobei dessen Schlaufe für die Umwälzung des Reaktorinhalts aus Öl bzw. Fett, Wasser, Alkohol und Enzym nicht aktiv ist.

Ein weiterer Reaktor führt gleichzeitig die Spalt- bzw. Spalt/Esterbildungsreaktion durch mit aktiver Schlaufe und ein dritter Reaktor wird während dieser Zeit über einen selbstaustragenden Separator abgefahren, wobei das Reaktionsgemisch in wässrige Glycerin haltige Phase, organische Phase mit abgetrennten Fettsäuren bzw. Fettsäureestern und enzymhaltige Emulsionsgrenzphase, die sich als Zwischenschicht bildet, getrennt wird. Die Emulsionsgrenzphase wird von Zeit zu Zeit diskontinuierlich aus dem Separator ausgetragen, durch Versetzen mit frischem Enzym nachgeschärft und dem Reaktor wieder zugeführt.

Die Reaktion kann so auf sehr hohem Enzymniveau gefahren werden, da durch die Umwälzung und die in den Umwälzpumpen zur Wirkung kommenden Scherfelder des Schlaufenreaktorbetriebs eine außerordentlich große Phasengrenzfläche entsteht. Dabei ist es möglich, die zugeführte Wassermenge gering zu halten und eine wässrige Phase mit wesentlich erhöhter Glycerinkonzentration zu gewinnen, als dies zuvor in den erwähnten Spaltprozessen möglich war. Selbst bei über 30 Gew.% Glycerin in der ausgeschleusten wässrigen Phase findet in diesem Fall keine nennenswerte Verlängerung der Reaktionszeit statt. Derartig hohe Glycerinkonzentrationen hatte man bislang nicht für praktikabel gehalten. Weiterhin lassen sich durch die hohe Glycerinkonzentration die Enzymverluste drastisch senken.

Somit kann erfindungsgemäß die Wasserzugabe sowohl beim reinen Spaltprozeß als auch beim kombinierten Spalt/Esterbildungsprozeß vorteilhaft gering sein. Bezogen auf die eingesetzte organische Phase aus eingesetztem Öl oder Fett und Alkohol wird bei letzterem mindestens 5 Gew.% Wasser zugesetzt. Die Zugabe von mehr als 200 Gew.% Wasser ist möglich, erschwert jedoch nur unnötig den gesamten Prozeß. Wenn man zudem den obigen Vorteil einer hohen durch die Erfindung möglichen Glycerinkonzentration im Bereich von etwa 10 bis 35 Gew.% bezogen auf die entstehende glycerinhaltige wässrige Phase nutzen will, arbeitet man bevorzugt im Bereich einer Wasserzugabe von 20 bis 30, maximal 50 Gew.% bezogen auf die eingesetzte organische Phase. Auch beim reinen Spaltprozeß arbeitet man im Bereich einer Wasserzugabe von 5 bis 200

Gew.%, bevorzugt 20 bis 30, maximal 50 Gew.% bezogen auf die eingesetzte organische Phase.

Erfindungsgemäß kann der Prozeß auf hohem Enzymniveau gefahren werden, ohne jedoch viel Enzym zu verbrauchen. So wird erfindungsgemäß die Lipase auch bei hoher Enzymaktivität in der Regel mit mindestens 0,01 Gew.% bezogen auf das eingesetzte Öl oder Fett als im Reaktor wirksame Menge vorgelegt. Ein derzeit bevorzugter Bereich für die vorgelegte Lipasemenge liegt bei den in den Ausführungsbeispielen angeführten Lipasen zwischen 0,1 und 0,5 Gew.% bezogen auf das eingesetzte Öl oder Fett. Dieses hohe Enzymniveau beschleunigt den Spalt- und auch den Spalt/Esterbildungsprozeß ungemein. Andererseits ist durch die Enzymrückführung bedingt, der tatsächliche Enzymverbrauch sehr gering, so daß nur Bruchteile der vorgelegten Mengen nachdosiert werden müssen. In den Versuchen betrugen die nach zu dosierenden Lipasemengen weniger als zehn Prozent von der vorgelegten, im Reaktor wirksamen Menge. Der Fachmann weiß, daß er das optimale Enzymniveau nicht nur enzymtypspezifisch, sondern auch in Abhängigkeit von der Enzymaktivität des jeweiligen Präparates auswählen muß. Schließlich ist zu beachten, daß beim Übergang auf ein immer geringeres Enzymniveau der Prozeß auch immer langsamer wird. Zudem ist bekannt, daß die Steigerung des Enzymniveaus über bestimmte Werte hinaus keinen verfahrenstechnischen bzw. wirtschaftlichen Vorteil mehr bringt. Dies ist auch bereits in den weiter oben erwähnten Veröffentlichungen dargelegt worden. Der Fachmann kann unter Berücksichtigung dieser Tatsachen, für die jeweiligen Ausgangskomponenten seines Prozesses das optimale Enzymniveau mit wenigen Versuchen bestimmen.

Erfindungsgemäß kann in Anwesenheit von Alkohol die Spalt- bzw. Spalt/Esterbildungsreaktion mit vollständiger Freisetzung des Glycerins in nur einer Stufe durchgeführt werden, wobei in dieser Stufe das Enzym im Kreislauf geführt wird.

Die erfindungsgemäße Spalt- bzw. Spalt/Esterbildungsreaktion wird jedoch bevorzugt z. B. mit Umwälzreaktoren mehrstufig, beispielsweise in zwei Stufen durchgeführt. Die in der zweiten Stufe gewonnene wässrige Glycerinphase wird

dann der ersten Stufe als Wasserphase zugeführt und der zweiten Stufe wird als Wasserphase Frischwasser und ferner die in der ersten Stufe gewonnene organische Phase zugeführt. Die zwei- oder mehrstufige Reaktion ist von Vorteil, weil die Enzymverluste so weiter minimiert werden können.

Das erfindungsgemäße Verfahren ist auch dazu geeignet, die Mono-, Di- und Triglyceride aus sogenannten Soap-Stocks aus der Alkali-Raffination von Speiseölen zu spalten und zu Fettsäureestern umzusetzen. Hierzu setzt man vorzugsweise vor der Spaltung/Esterbildung durch Zugabe von Säure die in den Seifen gebundenen Fettsäuren frei.

Die Erfindung wird nun anhand von Ausführungsbeispielen und der beiliegenden Zeichnungen erläutert, wobei

FIG.1a eine schematische Darstellung eines Beispiels für einen industriellen Prozeß nach der Erfindung zeigt, der für den Fall ausgelegt ist, daß die entstehenden Fettsäureester destillativ von den noch nicht umgesetzten Fettsäuren und dem Alkohol abtrennbar sind,

FIG.1b eine entsprechende schematische Darstellung eines modifizierten Prozesses für den Fall zeigt, daß die Fettsäureester nur zusammen mit den freien Fettsäuren destillativ abgetrennt werden können, und

FIG. 2 eine schematische Darstellung eines Beispiels für einen industriellen Spaltprozess nach der Erfindung zeigt, wobei keine Veresterung stattfindet und ohne Zugabe von Alkohol gearbeitet wird.

Die FIG.1a und 1b zeigen eine erfindungsgemäße Anordnung zur zweistufigen kombinierten Fettspaltung/Fettsäureesterbildung, die dazu geeignet ist, die aufgezeigten Merkmale im Produktionsmaßstab zu realisieren. Es sind zwei Prozeßstufen 1 und 2 vorgesehen, die jeweils drei Reaktoren mit Umwälzungsschleife umfassen. Die Reaktoren werden, wie weiter oben bereits dargelegt, intermittierend betrieben: Befüllen, Reaktionsphase, Entleerungsphase. Die jeweils für jeden der drei Reaktoren einer Stufe vorgesehene Umwälzungsschleife ist mit einer in der Zeichnung angedeuteten Kreiselpumpe und mit einem vorgeschalteten Wärmeaustauscher realisiert. Die Reaktoren bestehen z.B. aus Edel-

stahlbehältern mit Rührwerk. Ferner ist für jede Stufe ein Separator in Form eines selbstaustragenden Teller-Separators vorgesehen.

Der Ausgang des Separators der zweiten Spaltstufe, aus dem die organische Phase mit den Fettsäureestern ausgeschleust wird, ist mit einer Vakuum-Kurzweg-Destille verbunden, in der eine Kurzwegdestillation zur Abtrennung der freien Fettsäuren und des Alkohols von den gebildeten Fettsäureestern erfolgt - für den oben dargelegten Fall, daß die letzteren einen niedrigeren Dampfdruck haben als die ersteren.

Das Rückstandsprodukt der Destillation enthält bereits die gewünschten Ester, wenn die noch nicht umgesetzten freien Fettsäuren und der Alkohol leichter flüchtig als das Endprodukt in Form der gewünschten Fettsäureester sind. Dies entspricht dem in Fig. 1a skizzierten Prozeß.

Wird gemäß Fig. 1b stattdessen als Destillat nur der Alkohol gewonnen, enthält das Rückstandsprodukt der Destille sowohl die Ester als auch freie Fettsäuren. In einem Separator werden die freien Fettsäuren durch Zugabe einer alkalischen Lösung, z.B. Natronlauge, neutralisiert und können dann als schwerere Seifenphase von den Fettsäureestern zentrifugal abgetrennt werden. Die Seifenphase wird in an sich bekannter Weise z.B. in einer weiteren Zentrifuge unter vorheriger Zugabe von Säure, z.B. Schwefelsäure, in Fettsäuren und Salze gespalten, wobei die Fettsäuren in die erste Stufe der Reaktion zurückgeleitet werden.

Den Reaktoren werden eine Pufferlösung, das zu spaltende Triglycerid, der jeweilige esterbildende Alkohol und Enzym, d.h. Lipase, zugeführt. Ferner wird Enzym bei jeder intermittierend herbeigeführten Entleerung der Separatoren gewonnen und zurück in den gerade zu befüllenden Reaktor derselben Stufe geleitet, dem auch der jeweilige Separator zugeordnet ist. Somit bleibt das Enzym mit gleichzeitig ausgeschleusten Anteilen an freien Fettsäuren, noch nicht gespaltenen Triglyceriden usw. im Kreislauf einer Stufe. Hierdurch ist verhindert, daß sich die Ausgangsprodukte unterschiedlicher Qualität der beiden Stufen wieder teilweise vermischen. Auch die Gefahr von Rückreaktionen ist hierdurch verrin-

gert. Schließlich sei noch erwähnt, daß dem Separator der ersten Stufe Glycerin-Lösung als die abgetrennte schwerere flüssige Phase entnommen wird und zur Weiterverarbeitung bereit steht. Die Glycerinlösung aus dem Separator der zweiten Stufe wird gemäß den Figuren dem zu befüllenden Reaktor der ersten Stufe zugeführt.

Als Pufferlösung wird eine leicht saure Standardlösung, die nach den Maßgaben des Enzymherstellers ausgewählt und eingestellt wird, eingesetzt. In den Ausführungsbeispielen wurde eine leicht sauer gestellte wässrige Lösung mit Natriumacetat und Essigsäure eingesetzt. Der optimale PH-Wert der Pufferlösung wird nach dem jeweiligen Enzym eingestellt.

Dies gilt auch für die Temperatur in der Prozeßführung. In den Versuchen wurden Temperaturen zwischen 25 und 45 °C getestet. Hierbei ist zu beachten, daß die Temperatur aufgrund der exothermen Reaktion ohnehin leicht erhöht ist. In den getesteten Fällen war es jedoch ohne weiteres möglich, dafür zu sorgen, daß die wässrige und organische Phase flüssig gehalten wurden und Kristallisationen in den flüssigen Phasen nicht auftraten.

Als Enzyme kommen prinzipiell alle Enzymsorten in Betracht, die in den eingangs erwähnten Veröffentlichungen von Bühler und Wandrey dargelegt sind. Es wurden verschiedene *Candida Rugosa* Enzyme gründlich erprobt. Darüber hinaus eignet sich das erfindungsgemäße Verfahren auch für die Verwendung von aus Ölsaaten (z.B. aus Ricinusöl) gewinnbaren Enzymen. Diese haben naturgemäß den Vorteil einer besonderen selektiven Wirksamkeit für bestimmte Fettsäuren. Sie werden jedoch bisher kaum zur Fettspaltung eingesetzt und sind in der Regel teurer als andere fermentativ industriell aus Hefen, Pilzen, Bakterien und dergleichen hergestellte Enzyme.

In den Versuchsreihen wurden als n-Alkohole Oleylalkohol und Stearylalkohol erprobt. Als Iso-Alkohole wurden Versuchsreihen mit Iso-C8, Iso-C10, Iso-C13, Iso-C16, Iso-C18, Iso-C20 und Iso-C24 gefahren.

Die Ester wurden aus High-Oleic-Sonnenblumenöl hergestellt. Je nach Anwendungsfall kann man von entwachstem und raffiniertem oder auch rohem Öl oder Fett ausgehen.

Es ist auch möglich, die Erfindung mit weniger gängigen und speziell längerkettenigen Alkoholen über C26 bis zu C36 und mit anderen Ölen und Fetten auszuführen.

Beispiele

1. Enzymatische Esterbildung

Ein Ansatz von etwa 20 kg entwachstem und raffiniertem High Oleic Sonnenblumenöl 90plus[®] wurde in einem Rührgefäß (80 l Volumen) vorgelegt, mit 22,3 kg (10% stöchiometrischem Überschuß) Isofol 20 (C-20 Alkohol der Fa. Fuchs Petrolub), 10,6 kg Pufferlösung (0,1 n Na- Azetat/ Essigsäure, pH 4,6) und 40 g OF-Enzym 360 (Fa. Meito Sangyo) vermischt und 3 Stunden bei etwa 40°C mittels Kreiselpumpe umgepumpt.

Danach wurde die Mischung im freien Gefälle bei einer Leistung von etwa 30 kg/h Phasensumme direkt in eine Tellerzentrifuge (SA 1-01, Westfalia Separator AG, Oelde) geführt und kontinuierlich getrennt. Die Säurezahl der ablaufenden organischen Phase wurde mittels Titration (in alkoholischer Lösung mit 0,1 n KOH nach DIN 53169 und DIN 53402) bestimmt und durchlief ein Maximum bei etwa 55, um gegen Ende auf etwa 15 abzufallen.

Das Enzym wurde zusammen mit geringen Mengen an organischer Phase und Glycerinwasser aus der Zentrifuge ausgeschleust. Es zeigte kaum Aktivitätsverlust und konnte wieder verwendet werden.

Aus der Zentrifuge konnten eine klare Öl-/Esterphase und eine klare Glycerinlösung als wässrige Phase abgefahren werden. Die wässrige Phase enthielt die erwartete Menge an Glycerin als ca. 17 Gew.-%ige Lösung.

In der Öl-/Esterphase konnte mittels Dünnschichtchromatographie kein Tri-, Di-, oder Monoglycerid nachgewiesen werden. Nach einer abschließenden Vakuumdestillation eines Aliquots von 4 kg wurde der entsprechende C-20 Iso- Ester als Rückstand in 95 %-iger Ausbeute bezogen auf die eingesetzte Ölmenge erhalten.

Das Destillat enthielt die Überschußmenge des Iso-Alkohols und die restlichen nicht umgesetzten Mengen an Iso-Alkohol und freien Fettsäuren.

Ein Teil des Destillats wurde im Laborversuch einem stöchiometrischen Ansatz aus Öl, Iso-Alkohol und Pufferlösung zugesetzt, so daß der Alkoholüberschuß bezogen auf die neu eingesetzte Ölmenge wieder bei 10% lag.

Die Ausbeute erreichte in gleicher Zeit bei gleicher Menge an Enzym ebenfalls 95 %. Auch hier konnten nach Abschluß der Reaktion aus der abzentrifugierten organischen Phase vergleichbare Mengen an nicht umgesetztem Iso-Alkohol und freien Fettsäuren abdestilliert werden, so daß eine verlustfreie Kreislaufführung des Destillats möglich war. Es ist damit auch bewiesen, daß das eingesetzte Enzym (OF 360) die Veresterung von freien Fettsäuren und Iso- Alkohol in Anwesenheit einer wässrigen Phase katalysiert.

Die Wirksamkeit des erfindungsgemäßen Verfahrens wurde ferner für die n-Alkohole Oleylalkohol und Stearylalkohol erprobt. So wurde z.B. ein Versuch mit einem Oleylalkohol (MG= 268,49) und der im obigen Beispiel eingesetzten Lipase mit gleichem Erfolg durchgeführt. Als Iso-Alkohole wurden Iso-C8, Iso-C10, Iso-C13, Iso-C16, Iso-C18, Iso-C20 und Iso-C24 eingesetzt. Darüber hinaus wurden auch erfolgreiche Versuche mit Crambeöl gemacht, wobei sich die weiter oben dargelegten Möglichkeiten zeigten. Ein verzweigtes C16/C18 Fettalkoholgemisch (MG=286) konnte ebenfalls mit der obigen Lipase erfindungsgemäß erfolgreich umgesetzt werden.

Prinzipiell kann das erfindungsgemäße Verfahren auch auf synthetische Fettsäureester, z.B. synthetische Triglyceride und andere Polyolester angewandt werden.

2. Enzymatische Spaltung

Die FIG.2 zeigt deutlich auf, daß sich die Prozeßführung für die reine Fettspaltung ohne gleichzeitige Esterbildung durch Alkoholzusatz in wesentlichen Punkten nicht von dem oben bereits u.a. anhand der FIG. 1a und 1b gezeigten Verfahrensführung unterscheidet. Es sind beispielhalber mögliche Mengendurchsätze angegeben, jedoch kann und wurde der Prozeß auch mit anderen Mengen erfolgreich gefahren. Es wird daher auch nur der sich unterscheidende Teil des Prozesses erläutert. Die obigen Aussagen für mögliche Temperaturbereiche und Handhabung der Enzyme treffen gleichermaßen zu.

So ist der Ausgang des Separators der zweiten Spaltstufe, aus dem die organische Phase mit den Fettsäuren (statt der Fettsäureester) ausgeschleust wird, wiederum mit einer Vakuum-Kurzweg-Destille verbunden, in der eine Kurzwegdestillation zur Abtrennung der freien Fettsäuren erfolgt. Das Rückstandsprodukt der Destillation wird einem Kristallisator mit Rührwerk zugeführt, in dem eine Wachskristallisation erfolgt. Im Anschluß daran wird das Rückstandsöl, in dem Wachs und andere höher siedende Begleitstoffe als Feststoffe auskristallisiert sind, über eine Pumpe in eine Filtereinrichtung eingebracht und dort von diesen Begleitstoffen befreit. Das so gereinigte Öl wird dann zur Spaltung vor die erste Stufe zurückgeleitet.

Eine Spaltung erfolgte mit High-Oleic Sonnenblumenöl. Nach einer Startphase wurden in einem Reaktor der ersten Stufe 30.0 kg rohes, unraffiniertes High-Oleic Sonnenblumenöl 90 plus (eingetragenes Warenzeichen) der Firma Dr. Frische GmbH, (mit einer Säurezahl von 4, ermittelt durch Titration gegen alkalische Kalilauge nach DIN 53169 und DIN 53402), zusammen mit 7.0 kg einer Pufferlösung vorgelegt, die aus einer mit 3.0 g Natriumacetat gepufferten 12 Gew.-%igen Glycerin-in-Wasser-Lösung bestand. Die zugeführte Mischung aus Öl und Pufferlösung wurde unter Rühren mit der Kreiselpumpe umgewälzt und auf 35-40°C temperiert. Danach wurden 2 kg mit Enzym angereichertes Entleerungsprodukt aus der ersten Separatorstufe der Startphase eingesetzt und 3g frische Lipase des Enzyms aus "candida rugosa" (Lipase in Form eines

gepulverten Feststoffes von Meito Sangyo, Japan, 360000 U/g) zugegeben, das auch in der Startphase verwendet wurde. Nach 60 Minuten Reaktionszeit unter Rühren wurde die anschließend beruhigte Reaktionsmischung im Separator der ersten Stufe (selbstaustragende Teller-Zentrifuge SA1-01 der Firma Westfalia Separator AG) in eine organische, fettsäurehaltige Phase und eine wässrige Glycerin-Phase getrennt, wobei ca. 40 kg/h Reaktorinhalt über die Zentrifuge flossen und die Trommel der Zentrifuge alle 15 Minuten hydraulisch vollständig entleert wurde. Das Entleerungsprodukt der Trommel wurde dem jeweils gerade zu befüllenden Reaktor der ersten Stufe zugeführt. Der zu befüllende Reaktor der zweiten Stufe erhielt neben der ölsäurehaltigen organischen Phase vom Separator der ersten Stufe 7,0 kg der wie oben beschriebenen Pufferlösung, 2 kg Entleerungsprodukt aus der zweiten Separatorstufe der Startphase und 5g frische Lipase des obigen Typs zur Nachschärfung. Ansonsten wurde wie in der Fettspaltung der ersten Stufe vorgegangen mit dem Ergebnis, daß auf der Seite der leichteren Phase des Separators der zweiten Stufe eine klare rohe Ölsäure-Phase mit einer Säurezahl von 184 ablief entsprechend einem Spaltgrad von 93% (berechnet als Quotient der gemessenen Säurezahl durch die sich für die vorliegende Mischung ergebende theoretische Säurezahl). Als schwere Phase wurde mit der Zentrifuge eine 12 Gew.%ige Glycerin-Wasser/Pufferlösung abgetrennt. Die so in der zweiten Stufe gewonnene Roh-Fettsäure wurde in einem als Zwischenbehälter dienenden 200 Liter-Faß gesammelt und einer Kurzwegdestillation auf einer Vakuum-Kurzwegdestille vom Typ KD 10 der Firma UIC, Alzenau-Hörstein, mit vorgeschalteter Entgasungsstufe zur Abtrennung etwaiger geringer Wassermengen unterzogen. Beispielsweise wurde dann bei einem Gesamtdruck von 0,014 mbar und 191 °C destilliert, wobei ca. 8 Gew.% der eingesetzten Fettsäure kontinuierlich als Rückstandsprodukt auf der Seite der hierbei nicht siedenden Bestandteile abliefen. Die anderen 92 Gew.% des Rohproduktes destillierten als Ölsäure mit einer Säurezahl von 199-200 und nur geringsten Mengen an Begleitstoffen in Form von Fettsäuren mit niedrigerem Dampfdruck. Dies entsprach im Rahmen der Meßgenauigkeit der theoretisch berechneten Säurezahl. (Der Wert war aufgrund des geringen Anteils an leichter flüchtigen kürzeren Fettsäuren etwas höher als die theoretische Säurezahl).

Das Rückstandsprodukt wurde einer Entwachsung unterzogen, wobei die enthaltenen höheren Fettsäuren (C22 und größere Kettenlängen), Wachse und andere höher siedenden Begleitstoffe des Öls als Feststoffe aus kristallisierten und mittels Filtration abgetrennt wurden. Das filtrierte Rückstandsprodukt wurde mit einer in FIG.1 angedeuteten Pumpe in den Spaltprozeß vor die erste Stufe zurückgeleitet.

Auf gleiche Weise wurden etliche weitere Beispiele gefahren, u.a. mit höheren Enzymmengen und entsprechend kürzeren Spaltzeiten, mit Rindertalg sowie mit Crambeöl. Bei dem Beispiel mit Crambeöl, das 60% Eurucasäure enthielt, wurde erfolgreich eine Mischung des obigen unspezifischen Enzyms OF 360 und des 1,3-spezifischen Enzym Novozym 388 verwendet, das speziell spezifisch die an der 1,3 Stellung des Triglyceridgerüsts sitzenden Fettsäuren abspaltet, in diesem Fall die Erucasäure.

Ansprüche

1. Verfahren zur enzymatischen Spaltung von Ölen und/oder Fetten bei gleichzeitiger enzymatischer Bildung von Fettsäureestern unter Einsatz von als Biokatalysatoren wirkenden Lipasen und von Alkoholen, insbesondere n- und Iso-Alkoholen, in welchem:

man auf ein Gemisch aus Triglyceriden, Wasser und einem öl- bzw. fettlöslichen Alkohol als Biokatalysatoren für eine Spaltung des Öls bzw. Fetts und eine Bildung von Fettsäureestern Lipasen einwirken läßt,

das hierbei gebildete Reaktionsgemisch zur Trennung in eine wässrige, glycerinhaltige Phase und eine organische Phase, die die gebildeten Fettsäureester enthält, in eine selbstaustragende Zentrifuge gegeben wird,

die Zentrifuge so eingestellt wird, daß eine zwischen der ablaufenden wässrigen und ablaufenden organischen Phase auftretende, mit Lipase angereicherte Zwischenschicht sich in der Zentrifuge ansammelt, und

die Zentrifuge zu vorgegebenen Zeitpunkten entleert wird und der dabei ausgetragene Trommelinhalt der Zentrifuge in den kombinierten Spalt- und Esterbildungsprozeß zurückgeführt wird bzw. für einen weiteren Spalt- und Esterbildungsprozeß bereitgestellt wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1,

dadurch gekennzeichnet,

daß der Alkohol mit einem Überschuß von 2 bis 100 %, vorzugsweise 5 bis 20%, gegenüber der stöchiometrisch erforderlichen Menge für die Esterbildung zugesetzt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2,

dadurch gekennzeichnet,

daß das Wasser zugesetzt wird mit mindestens 5 Gew.% bezogen auf die eingesetzte organische Phase aus Öl bzw. Fett und Alkohol.

4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,

daß als der Alkohol solche Alkohole eingesetzt werden, die in der gebildeten organischen Phase gut löslich, hingegen in Wasser erheblich schlechter löslich sind, insbesondere mittel- bis langkettige n- und Iso-Alkohole.

5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die die Fettspaltung/Esterbildung diskontinuierlich in Reaktoren durchgeführt wird, die im Schlaufenbetrieb mit durch Pumpen umgewälztem Reaktorinhalt betrieben werden, wobei mehrere Reaktoren parallel für eine einzige oder jede mehrerer Reaktionsstufen vorgesehen sind, einer der Reaktoren bei nicht aktivierter Umwälzschleife befüllt wird, währenddessen ein weiterer Reaktor mit aktiver Umwälzschleife im Spalt/Esterbildungsbetrieb gefahren wird und ein noch weiterer Reaktor ebenfalls bei nicht aktivierter Umwälzschleife über eine Zentrifuge entleert wird, die sich beim Spaltprozeß bildende wässrige, glycerinhaltige Phase von der organischen Phase, die Fettsäureester enthält, trennt, bevor die Fettsäureester von der organischen Phase getrennt werden.
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Lipasen unspezifische Lipasen, spezifische Lipasen oder Mischungen von unspezifischen und spezifischen Lipasen eingesetzt werden.
7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß aus der organischen Phase freie Fettsäuren und Alkohol von den gebildeten Fettsäureestern destillativ abgetrennt werden und in den Spalt/Esterbildungsprozeß zurückgeführt werden.
8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die aus der selbstaustragenden Zentrifuge abfließende organische Phase einer weiteren selbstaustragenden Zentrifuge, insbesondere einer Polierzentrifuge zugeführt wird, die ebenfalls intermittierend entleert wird, um die sich als Sediment

an der Zentrifugenwand abscheidenden Lipaserestmengen für den Spaltprozeß wieder zu gewinnen.

9. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach einem der vorhergehenden Ansprüche, aufweisend:

einen oder mehrere Spalt/Esterbildungsreaktoren,

eine oder mehrere selbstaustragende Zentrifugen, in denen sich die zwischen der abfließenden wässrigen und abfließenden organischen Phase auftretende, mit Lipase angereicherte Zwischenschicht ansammelt, und die zu vorgegebenen Zeitpunkten entleert werden,

eine Rückführungseinrichtung zur Rückführung des intermittierend ausgetragenen Trommelinhalts der Zentrifuge in den kombinierten Spalt- und Esterbildungsprozeß, und eine

Einrichtung zur Trennung von Alkohol, freien Fettsäuren und gebildeten Fettsäureestern aus der von der Zentrifuge gelieferten organischen Phase.

10. Vorrichtung nach Anspruch 9,

dadurch gekennzeichnet,

daß die Einrichtung zur Trennung eine Destillationseinrichtung, insbesondere eine Kurzwegdestille oder ein Fallfilmverdampfer, ist.

11. Verfahren zur enzymatischen Spaltung von Ölen und/oder Fetten unter Einsatz von als Biokatalysatoren wirkenden Lipasen zur Gewinnung von Fettsäuren und Glycerin, in welchem:

man auf ein Gemisch aus einem Öl bzw. Fett und Wasser als Biokatalysatoren für eine Spaltung des Öls bzw. Fetts Lipasen einwirken läßt,

das hierbei gebildete Reaktionsgemisch zur Trennung in eine wässrige, glycerinhaltige Phase und eine organische Phase, die durch die vorausgehende Spaltung abgespaltene freie Fettsäuren enthält, in eine selbstaustragende Zentrifuge gegeben wird,

die Zentrifuge so eingestellt wird, daß eine zwischen der ablaufenden wässrigen und ablaufenden organischen Phase auftretende, mit Lipase angereicherte Zwischenschicht sich in der Zentrifuge ansammelt, und

die Zentrifuge zu vorgegebenen Zeitpunkten entleert wird und der dabei ausgetragene Trommelinhalt der Zentrifuge in den Spaltprozeß zurückgeführt wird bzw. für einen weiteren Spaltprozeß bereitgestellt wird.

12. Verfahren nach Anspruch 11,

dadurch gekennzeichnet,

daß die die Fettspaltung diskontinuierlich in Reaktoren durchgeführt wird, die im Schlaufenbetrieb mit durch Pumpen umgewälztem Reaktorinhalt betrieben werden, wobei mehrere Reaktoren parallel für eine einzige oder jede mehrerer Reaktionsstufen vorgesehen sind, einer der Reaktoren bei nicht aktivierter Umwälzschleife befüllt wird, währenddessen ein weiterer Reaktor mit aktiver Umwälzschleife im Spaltbetrieb gefahren wird und ein noch weiterer Reaktor ebenfalls bei nicht aktivierter Umwälzschleife über eine Zentrifuge entleert wird, die sich beim Spaltprozeß bildende wässrige, glycerinhaltige Phase von der organischen Phase, die freie Fettsäuren enthält, trennt, bevor die Fettsäuren von der organischen Phase getrennt werden.

13. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 und 12,

dadurch gekennzeichnet,

daß aus der organischen Phase freie Fettsäuren und Alkohol von den gebildeten Fettsäureestern destillativ abgetrennt werden und in den Spalt/Esterbildungsprozeß zurückgeführt werden.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 13,

dadurch gekennzeichnet,

daß die aus der selbstaustragenden Zentrifuge abfließende organische Phase einer weiteren selbstaustragenden Zentrifuge, insbesondere einer Polierzentrifuge zugeführt wird, die ebenfalls intermittierend entleert wird, um die sich als Sediment an der Zentrifugenwand abscheidenden Lipaserestmengen für den Spaltprozeß wieder zu gewinnen.

15. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach einem der Ansprüche 11 bis 14, aufweisend:

einen oder mehrere Spaltreaktoren,

eine oder mehrere selbstaustragende Zentrifugen, in denen sich die zwischen der abfließenden wässrigen und abfließenden organischen Phase auftretende, mit Lipase angereicherte Zwischenschicht ansammelt, und die zu vorgegebenen Zeitpunkten entleert werden,

eine Rückführungseinrichtung zur Rückführung des intermittierend ausgetragenen Trommelinhalts der Zentrifuge in den Spaltbildungsprozeß, und eine

Einrichtung zur Trennung von freien Fettsäuren aus der von der Zentrifuge gelieferten organischen Phase.

16. Vorrichtung nach Anspruch 15,

dadurch gekennzeichnet,

daß die Einrichtung zur Trennung eine Destillationseinrichtung, insbesondere eine Kurzwegdestille oder ein Fallfilmverdampfer, ist.

Fig. 1 a

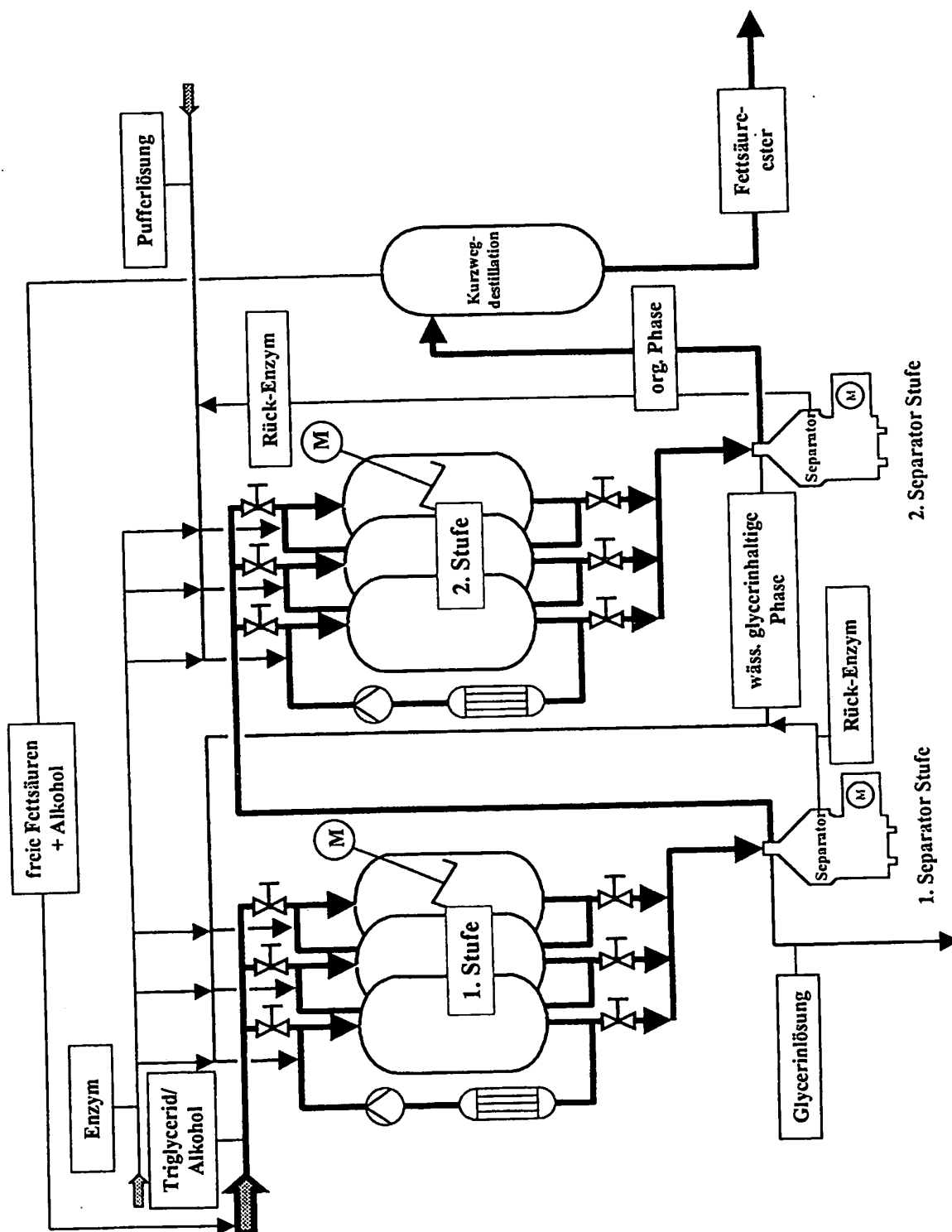
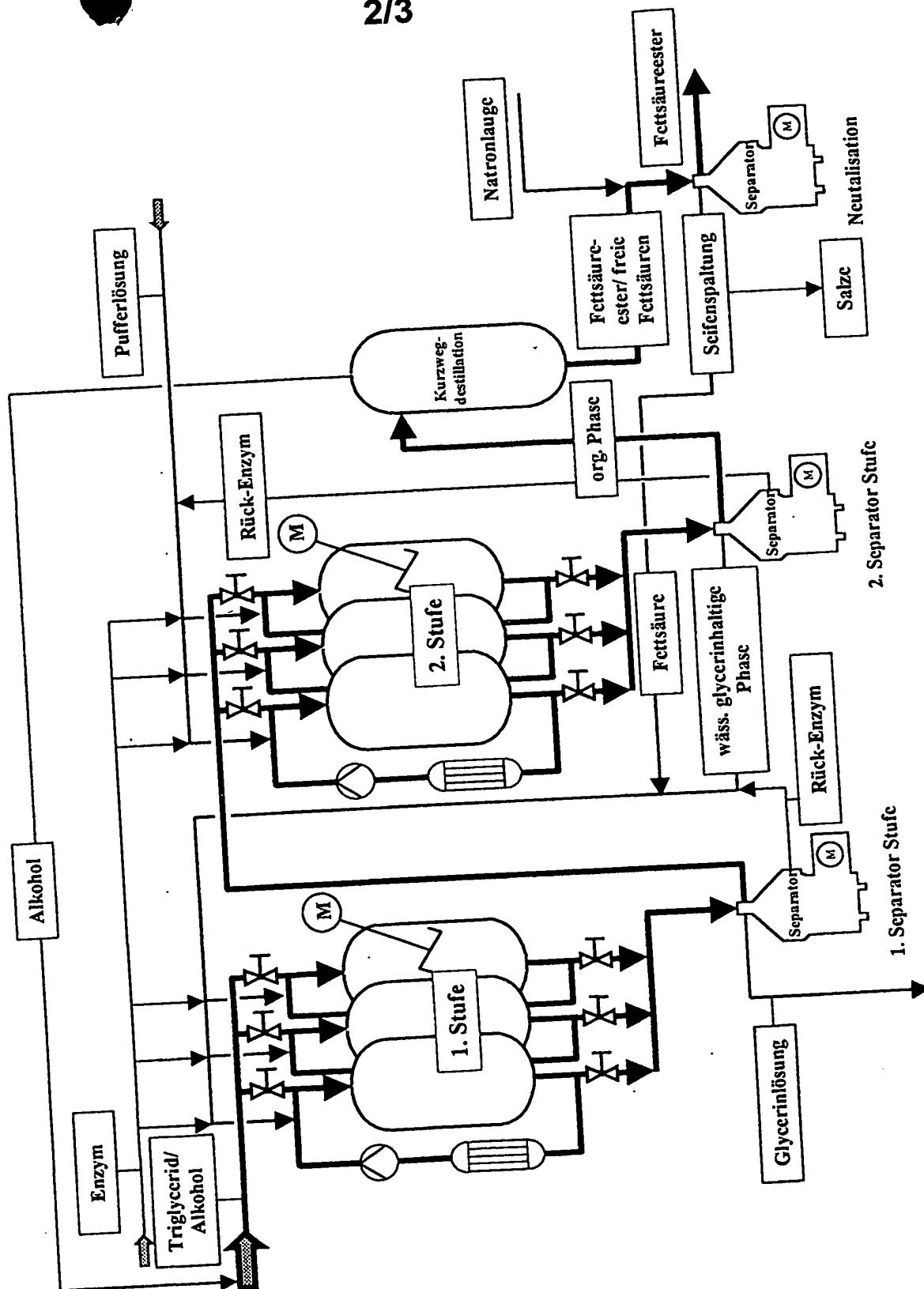
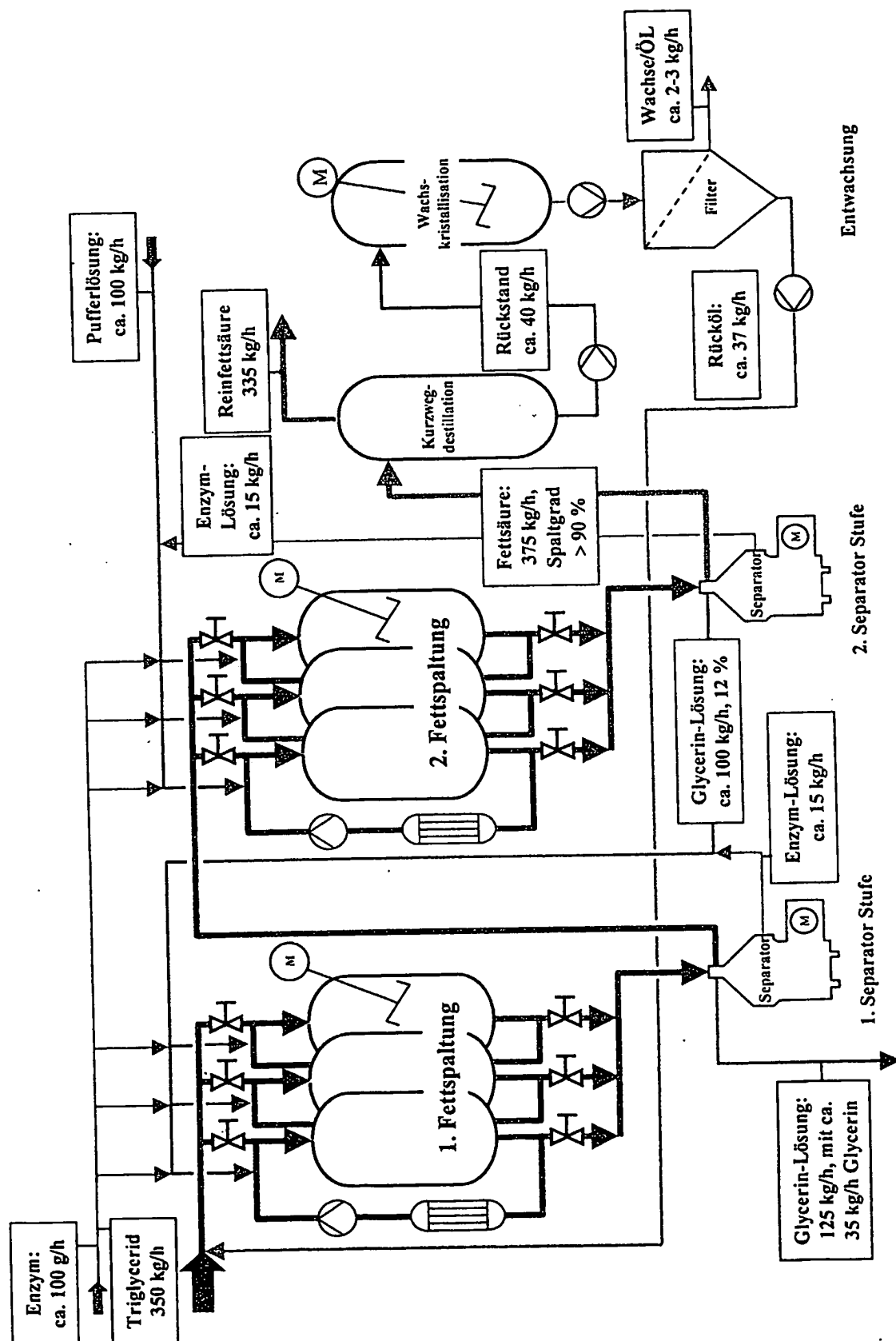


Fig. 1 b



Fettpaltung (enzymatisch)

FIG. 2



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

National Application No
PCT/EP 02/06077

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C12P7/20 C12P7/64 C12P7/62 C12M1/00 C12M1/33
C11C1/04 C11C3/00 C11C3/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12P C12M C11C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 195 311 A (YOSHIKAWA OIL & FAT (JP)) 24 September 1986 (1986-09-24) siehe insbesondere Beispiel 20, S. 18-26 und Ansprüche 1 und 9. the whole document ---	1-16
X	BUEHLER M ET AL: "Continuous use of lipases in fat hydrolysis" FETT - LIPID, WILEY-VCH VERLAG, WEINHEIM, DE, vol. 89, no. 14, 1987, pages 598-605, XP002188305 ISSN: 0931-5985 cited in the application the whole document --- -/--	1-16

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 October 2002

Date of mailing of the international search report

18/10/2002

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Douschan, K

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 02/06077

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE 199 22 882 A (COGNIS DEUTSCHLAND GMBH) 30 November 2000 (2000-11-30) the whole document ---	1-16
A	DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1993 TANIGAKI MASANOBU ET AL: "Hydrolysis of soybean oil by lipase with a bioreactor having two different membranes." Database accession no. PREV199395084843 XP002182853 abstract & JOURNAL OF FERMENTATION AND BIOENGINEERING, vol. 75, no. 1, 1993, pages 53-57, ISSN: 0922-338X ---	1-16
A	GAN Q ET AL: "SIMULTANEOUS REACTION AND SEPARATION IN ENZYMATIC HYDROLYSIS OF HIGH OLEATE SUNFLOWER OIL - EVALUATION OF ULTRAFILTRATION PERFORMANCE AND PROCESS SYNERGY" CHEMICAL ENGINEERING JOURNAL, ELSEVIER SEQUOIA, LAUSANNE, CH, vol. 71, no. 2, 21 December 1998 (1998-12-21), pages 87-96, XP001022886 ISSN: 1385-8947 the whole document ---	1-16
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 013, no. 111 (C-577), 16 March 1989 (1989-03-16) & JP 63 287492 A (KAO CORP), 24 November 1988 (1988-11-24) abstract -----	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP 02/06077

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0195311	A	24-09-1986	JP 2554469 B2	13-11-1996
			JP 62166895 A	23-07-1987
			JP 1825306 C	28-02-1994
			JP 5033712 B	20-05-1993
			JP 61204197 A	10-09-1986
			JP 1985242 C	25-10-1995
			JP 6095950 B	30-11-1994
			JP 62048391 A	03-03-1987
			CH 667284 A5	30-09-1988
			DE 3672270 D1	02-08-1990
			EP 0195311 A2	24-09-1986
			ES 555633 D0	01-07-1987
			ES 8706830 A1	16-09-1987
			SG 34093 G	09-07-1993
			US 5219733 A	15-06-1993
DE 19922882	A	30-11-2000	DE 19922882 A1	30-11-2000
JP 63287492	A	24-11-1988	JP 7016425 B	01-03-1995

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 02/06077

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C12P7/20 C12P7/62 C12M1/00 C12M1/33
C11C1/04 C11C3/00 C11C3/10

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C12P C12M C11C

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	EP 0 195 311 A (YOSHIKAWA OIL & FAT (JP)) 24. September 1986 (1986-09-24) siehe insbesondere Beispiel 20, S. 18-26 und Ansprüche 1 und 9. das ganze Dokument	1-16
X	--- BUEHLER M ET AL: "Continuous use of lipases in fat hydrolysis" FETT - LIPID, WILEY-VCH VERLAG, WEINHEIM, DE, Bd. 89, Nr. 14, 1987, Seiten 598-605, XP002188305 ISSN: 0931-5985 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	1-16
	--- -/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

G Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

10. Oktober 2002

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

18/10/2002

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Douschan, K

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

II Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/06077

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DE 199 22 882 A (COGNIS DEUTSCHLAND GMBH) 30. November 2000 (2000-11-30) das ganze Dokument ---	1-16
A	DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; 1993 TANIGAKI MASANOBU ET AL: "Hydrolysis of soybean oil by lipase with a bioreactor having two different membranes." Database accession no. PREV199395084843 XP002182853 Zusammenfassung & JOURNAL OF FERMENTATION AND BIOENGINEERING, Bd. 75, Nr. 1, 1993, Seiten 53-57, ISSN: 0922-338X ---	1-16
A	GAN Q ET AL: "SIMULTANEOUS REACTION AND SEPARATION IN ENZYMATIC HYDROLYSIS OF HIGH OLEATE SUNFLOWER OIL - EVALUATION OF ULTRAFILTRATION PERFORMANCE AND PROCESS SYNERGY" CHEMICAL ENGINEERING JOURNAL, ELSEVIER SEQUOIA, LAUSANNE, CH, Bd. 71, Nr. 2, 21. Dezember 1998 (1998-12-21), Seiten 87-96, XP001022886 ISSN: 1385-8947 das ganze Dokument ---	1-16
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 013, no. 111 (C-577), 16. März 1989 (1989-03-16) & JP 63 287492 A (KAO CORP), 24. November 1988 (1988-11-24) Zusammenfassung -----	1-16

INTERNATIONAL RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 02/06077

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0195311 A	24-09-1986	JP 2554469 B2	13-11-1996
		JP 62166895 A	23-07-1987
		JP 1825306 C	28-02-1994
		JP 5033712 B	20-05-1993
		JP 61204197 A	10-09-1986
		JP 1985242 C	25-10-1995
		JP 6095950 B	30-11-1994
		JP 62048391 A	03-03-1987
		CH 667284 A5	30-09-1988
		DE 3672270 D1	02-08-1990
		EP 0195311 A2	24-09-1986
		ES 555633 D0	01-07-1987
		ES 8706830 A1	16-09-1987
		SG 34093 G	09-07-1993
		US 5219733 A	15-06-1993
DE 19922882 A	30-11-2000	DE 19922882 A1	30-11-2000
JP 63287492 A	24-11-1988	JP 7016425 B	01-03-1995